

**Zur Frage der Bedeutung
des Subependyms für die Gliomgenese**
Karyometrische Untersuchungen im subependymalen
Zellager der Ratte im Cancerogenversuch

Claus-Michael Pautzke

1973

Aus dem Institut für Allgemeine Pathologie und
Neuropathologie der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München
Vorstand: Professor Dr. E. Dahme

ZUR FRAGE DER BEDEUTUNG DES SUBEPENDYMS FÜR DIE GLIOMGENESE
KARYOMETRISCHE UNTERSUCHUNGEN IM SUBEPENDYMALEN
ZELLAGER DER RATTE IM CANCEROGENVERSUCH

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

von
Claus-Michael Pautzke
aus
Berlin

München 1973



Gedruckt mit der Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan: Prof. Dr.E. Dahme

Referent: Prof. Dr.E. Dahme

Korreferent: Prof. Dr.J. v. Sandersleben

Tag der Promotion: 23. Februar 1973

Meiner lieben Mutter

Inhalt

	Seite
A. Einleitung	1
B. Problemstellung	3
C. Literatur	, 6
D. Anatomische Vorbemerkungen	9
E. Eigene Untersuchungen	12
I. Material und Methodik	12
II. Ergebnisse	14
F. Diskussion	18
G. Zusammenfassung	21
Literaturverzeichnis	23



Digitized by the Internet Archive
in 2026

A. Einleitung

Die Hohlräume des Zentralnervensystems, die Hirnventrikel und der Rückenmarkskanal, sind mit einer epithelartigen Schicht, dem Ependym, ausgekleidet. Als Übergangszone zum eigentlichen Parenchym des Zentralnervensystems existiert eine subependymale Gliaschicht, die aber nicht kontinuierlich unter dem gesamten Ependymsaum zu finden ist und tierartliche Unterschiede aufweist. Eine exakte und definitive Zuordnung in histogenetischer und funktioneller Hinsicht für die Subependymschicht steht noch aus.

Die ausgereifte Nervenzelle ist, im Vergleich zu anderen Zellen des Organismus, u.a. durch ihre Teilungsunfähigkeit charakterisiert und ist ausgesprochen regenerationsuntüchtig. Die neuro-ektodermale Glia des ausgereiften Zentralnervensystems besitzt auch nur im beschränkten Maße die Fähigkeit sich zu regenerieren. Die Zellteilung erfolgt dabei in der Regel durch Mitosen (NAKAI, 1963).

Eine Sonderstellung scheinen aber bestimmte Gebiete in der subependymalen Gliaschicht einzunehmen, denn SCHWARZ et al. (1932) fanden noch bei Kindern, OPALSKI (1933), GLOBUS und KUHLENBECK (1942) bei Erwachsenen im Bereich des Nucleus caudatus und in der Regio striothalamica (GLOBUS und KUHLENBECK) Zellreste, die sich wie Matrixzellen des Embryos verhalten. KIRSCHKE (1967, 1970) fand Matrixzellen (= Keimschicht des embryonalen Nervensystems, die sich durch lebhafte mitotische Aktivitäten auszeichnet) auch während der Postembryonalperiode im Bereich der Seitenventrikel bei Fischen, Amphibien, Reptilien und Vögeln. Ebenso bei Maus, Goldhamster, Maulwurf und Ratte.

Davon ausgehend, daß auch im erwachsenen Gehirn noch Inseln von subependymalen Gliazellen zu finden sind, die embryonalem Matrixgewebe ähnlich sind, läßt vermuten, jene Zellschicht im periventrikulären Bereich der lateralen Wand der

Seitenventrikel könne als Ursprungsort bestimmter Hirntumoren bei Mensch (GLOBUS und KUHLENBECK, 1942, 1944; SCHEINKER, 1945; BOYKIN et al., 1953; CHASON, 1956) und Tier (LUGINBÜHL, 1963; LUGINBÜHL et al., 1968; LEWIS, 1968a; STAVROU et al., 1970) gelten.

B) Problemstellung

Für die Onkogenese im allgemeinen gilt nach BÜCHNER (1952) folgendes Schema:

- a) Geschwülste bei krankhaft gesteigerter Regeneration
- b) Geschwülste bei Störung der physiologischen Regeneration im Alter
- c) Geschwülste bei genombedingter frühzeitiger Störung der physiologischen Regeneration
- d) Geschwülste bei krankhafter Gewebshyperplasie.

Davon ausgehend und bezogen auf die Ätiologie von Hirngeschwülsten, lassen sich Punkt a) auf traumatisch bedingte Tumoren und d) allein auf Hypophysentumoren beziehen. Punkt b) ließe sich bei zahlreichen Hirntumoren im Alter diskutieren (ZÜLCH, 1956). Übrig bliebe Punkt c) als Erklärung für die Entstehung von Hirntumoren aus dem jugendlichen Matrixgewebe, untermauert durch die Feststellung von BÜCHNER (1950), daß "vollausgereifte Parenchymzellen mit größter Wahrscheinlichkeit unfähig seien, aus sich einen bösartigen Tumor hervorgehen zu lassen". Wenn am ausgereiften Zentralnervensystem etwa neurotrope Onkogene zum Autoblastom führen, so ist nach obigen Ausführungen zu postulieren, daß noch junge bzw. embryonale Zellkeime bestehen, die durch den chemisch bedingten Einfluß in ihrer funktionellen Entwicklung irritiert werden und neoplastisch entarten können.

Geht man von der Annahme aus, daß die tumoröse Entartung der Zelle vom Kern ausgeht, in welchem die Masse des genetischen Materials in Form der Desoxyribonukleinsäure (DNS) liegt, so kann man mit Hilfe von Kernmessungen versuchen eine eventuelle Veränderung der Zellkerngröße festzustellen. Grundlage für diese Annahme ist die Mutationstheorie (BAUER, 1928), der zufolge die Krebszelle dadurch charakterisiert ist, daß sie einer genetischen Fehlinformation unterliegt, die im Zellkern lokalisiert ist (vgl. auch MARQUARDT, 1959). Eine Zu-

nahme der Kernvolumina bis zu 50 % bei Neoplasien der Lunge und der Haut gegenüber gesundem Gewebe fand EHRICH (1936). Einige Autoren berichten von einer Größenzunahme der Epidermiszellkerne bei Mäusen, die mit karzinogenen Stoffen behandelt worden waren (EPANTSCHIN, 1938; PAGE, 1938; COWDRY und PALETTA, 1941; KRAEMER, 1946). LANGER (1942) beobachtete ein deutliches Anwachsen der Kernvolumina bei Leberzellen der Ratte unter Einwirkung des karzinogenen Buttergelbs und glaubte, die Größenzunahme der Zellkerne sei durch eine Verdoppelung aller Kernsubstanzen ohne darauffolgende Kernteilung (Endomitose) zu erklären. HEBAUER (1958) untersucht karyometrisch zirrhotische bzw. tumoröse Lebern von Ratten, die mehrere Monate mit Pflanzen der Gattung Senecio gefüttert worden waren. Er fand eine deutliche Vergrößerung der Kernklassen gegenüber gesunden Tieren und folgerte: "Aus der funktionellen Anpassung, welche offenbar von spezifischen Strukturveränderungen begleitet wird, hat sich eine Zellentartung heraus entwickelt, die bereits den spontanen Metaplasien in dem Erststadium eines malignen, neoplastischen Wachstums an die Seite zu stellen ist".

Welche Rolle die subependymäre Zellschicht bei der Entstehung von ventrikelnahen Gliomen im Bereich der Großhirnhemisphäre spielt, ist noch nicht geklärt. Wenn nicht alle Gliazellen des Gehirns bei der erwachsenen Ratte ausgereift sind und noch Inseln von embryonalem Matrixgewebe bestehen, so könnte diese Zellgruppe, z.B. unter dem Einfluß von onkogenen Stoffen, neoplastisch entarten. - Eine pathische Vermehrung der DNS bzw. der Chromosomen im Kern einer transformierten Zelle, ausgelöst etwa durch applizierte neurotrope Onkogene, sollte auch mit einer Größenzunahme des Kerns einhergehen und karyometrisch erfaßbar sein.

Es wird angenommen, daß die subependymale Gliazellschicht Ausgangspunkt bei der Entstehung bestimmter Gliome ist und sich damit im Zustand der Präonkogenese befindet. Ob sich auch die Kerngröße der Subependymzellen verändern, wenn in

ihrer Nachbarschaft, bedingt durch exogene Einflüsse, Gliome entstehen, soll mit einer rein quantitativen Meßmethode, der Karyometrie, untersucht werden.

In dieser Arbeit sollen karyometrische Messungen im periventriculären, subependymalen Gliabereich bei Ratten ohne Gehirntumoren und bei Ratten mit experimentell erzeugten Gliomen statistisch verglichen werden, ohne dabei auf die Art der erzeugten Gliome im Bereich des Cerebrums näher einzugehen.

C. Literatur

Anlehnend an das Klassifikationsschema der Hirngeschwülste beim Menschen von ZÜLCH (1956) finden sich auch umfassende Berichte und Einteilungen von Hirntumoren bei den verschiedensten Tierarten in den Arbeiten von FRAUCHIGER und FANKHAUSER (1957), DAHME und SCHIEFER (1960), LUGINBÜHL et al. (1968) und STAVROU et al. (1970).

ZÜLCH teilt die Hirntumoren in vier Hauptgruppen ein:

- a) neuroepitheliale (neuroektodermale) Tumoren
- b) mesodermale Tumoren
- c) ektodermale Tumoren
- d) Mißbildungstumoren

Die Hauptgruppen sind wiederum in Untergruppen unterteilt, von denen hier nur die Aufgliederung der neuroektodermalen Tumoren aufgeführt werden soll: Von ihnen sind in diesem Zusammenhang die Gliome, nämlich:

- 1) Medulloblastom
- 2) Spongioblastom
- 3) Oligodendrogliom
- 4) Astrocytom
- 5) Glioblastom

von Interesse. Ferner gehören zu den neuroektodermalen Tumoren das Ependymom, das Plexuspapillon, das Pinealom und das Neurinom. Gliome sind allerdings die am häufigsten diagnostizierten Hirntumoren beim Menschen (TOOTH, 1912; BAILEY, 1932; ZÜLCH, 1956) und bei den Tieren (FRAUCHIGER und FANKHAUSER; DAHME und SCHIEFER; LUGINBÜHL et al.), wobei übereinstimmend eine bevorzugte Lage vieler Gliome im Großhirn mit Lokalisation in Nähe des Ventrikelsystems gegeben ist.

Von GLOBUS und KUHLENBECK (1944) geht die Vermutung aus, bestimmte Hirntumoren neuroektodermaler Herkunft beim Menschen hätten ihren Ursprung wohl im Gebiet der subependymalen

Gliaschicht, die sich hier Reste von embryonalem Matrixgewebe fänden. SCHEINKER schließt sich dieser Anschauung an und nennt neuroepitheliale Hirntumoren, deren Zellen in Struktur und Morphologie mit den Zellen der subependymalen Gliaschicht verwandt sind, "Subependymome". Ihr hervorstechendes Merkmal ist ein expansives Wachstum mit räumlicher Ausdehnung der Ventrikel. ZÜLCH bezeichnet einige Spongioblastome ebenfalls als "Subependymome", da sie eine Wucherung der reifen subependymalen Glia darstellen, stellt aber ihren eindeutigen histogenetischen Ursprung in Frage, so daß die "Subependymome" in seiner Klassifikation nicht gesondert aufgeführt werden. Die Bezeichnung "Subependymom" für bestimmte intracranielle Geschwülste wurde auch in den Arbeiten von BOYKIN et al. (1954), CHASON (1956) und LEWIS (1968a) diskutiert.

Beim Hund beschreiben DAHME und SCHIEFER (1960) und LUGINBÜHL (1963) eine auffällige Häufigkeit von Gliomen bei den brachycephalen Rassen wie Boxer, Boston Terrier und Bulldogge. LUGINBÜHL setzt ihre Entstehung in einen gewissen Zusammenhang zum Subependym im periventrikulären Bereich. Ebenfalls beim Boxer fanden HAYES und SCHIEFER (1969) Hirntumoren, die ihren Ursprung im Subependym haben sollen. Eine Rassedisposition brachycephaler Hunde für Hirntumoren bestätigt auch die Arbeit von SCHIEFER et al. (1970). So betrug der prozentuale Anteil an Boxern an insgesamt untersuchten Hunden in einem Zeitraum von 11 Jahren nur 11 %; diese Rasse stellte aber ca. 42 % aller bei der Sektion gefundenen Hirntumorfälle.

Allerdings konnte FISCHER (1966) bei Untersuchungen an Gehirnen brachycephaler Hunderassen keinen kausalen Zusammenhang zwischen undifferenzierten Subependymzellen und Tumordisposition feststellen. Vergleicht man die Ergebnisse der Arbeiten von STAVROU et al. (1970) und KLAUS (1972), in denen karyometrische Untersuchungen an Subependymzellen bei Tumorträgern brachycephaler und dolichocephaler Hunderassen angestellt wurden, ergibt sich ebenfalls kein deutlicher Hin-

weis auf eine eventuelle Gliomdisposition bei den kurzschädelligen Hunderassen. KLAUS verglich auch das histologische Bild des Subependyms beider Hunderassen und and keinen Anhaltspunkt, der auf eine Gliomdisposition der kurzschädelligen Hunde hinweist.

Bei der Ratte sind spontane Hirntumoren selten. GUERIN (1954), LUGINBÜHL (1963) und GARNER (1967) berichten von jeweils zwei bis drei, teils unklassifizierten Gliomen, teils Oligodendrogliomen bei der Ratte, die spontan aufgetreten waren. BOTS et al. untersuchten insgesamt 1100 Albinoratten und fanden bei drei Tieren in der Hemisphäre gelegene Hirntumoren (zwei Oligodendrogliome, ein Astrocytom).

Andererseits war es DRUCKREY et al. (1964, 1967) gelungen, unter Anwendung von Resorptiv-Onkogenen mit neurotroper Wirkung bei Ratten im Experiment Hirntumoren zu erzeugen. In Anlehnung an die Arbeiten von DRUCKREY et al. konnten experimentell mit Hilfe des neuroonkogenen Methyl-N-nitrosoharnstoff bei Ratten Hirntumoren, vorwiegend Gliome (s. Abb. 1a + b), erzeugt werden (Literatur bei JÄNISCH und SCHREIBER, 1960; STAVROU, 1971).

D. Anatomische Vorbemerkungen

Verschiedene Theorien über die Entstehung des Zentralnervensystems (HIS (1889), SCHAPER (1897), FUJITA (1963)) gehen davon aus, daß die Epithelzellen, die das embryonale Neuralrohr auskleiden, die ektodermale Keimschicht darstellen, aus der sich durch weitere Differenzierungsvorgänge das Nervengewebe entwickelt. Einigkeit herrscht bei den Autoren über den Ausgangspunkt (Epithelzellschicht oder Matrix) und über das hochdifferenzierte Endprodukt, das Gewebe im Zentralnervensystem. Dies sind Neurocyten, Gliazellen und das die Hirnventrikel epithelartig auskleidende Ependym. Eine Sonderstellung nehmen die als Mikroglia bezeichneten Anteile des Gliagewebes ein, die nach HORTEGA (1919) mesodermales Ursprungs sind. Die Mikrogliazellen erscheinen im Zentralnervensystem am Ende der Embryonalperiode bzw. kurz nach der Geburt: Später also als andere Neurogliaelemente und gerade zu der Zeit, da die Entwicklung der Hirnhäute und der Blutgefäße im Gehirn ihren Höhepunkt erreichen. Daher glaubte HORTEGA, die Mikrogliazellen stammten ausschließlich von den Meningen bzw. von den zirkulierenden Monocyten ab, die entlang den Blutgefäßen wandernd dann vorwiegend im Gebiet unterhalb des Ependyms zu finden sind. CAMMERMEYER (1965) glaubt, durch seine Untersuchungen mit bestimmten Kernfärbungsmethoden auch eine Verwandtschaft der Mikrogliazellen mit dem Ependymzellen gefunden zu haben, und verläßt damit die Anschauung von HORTEGA, wonach die Mikroglia allein vom Mesoderm abstamme. In autoradiographischen Untersuchungen von LEWIS (1968b) wird zwar die mesodermale Herkunft der Mikroglia nicht verneint, aber LEWIS hält daneben auch eine Entwicklung der Mikrogliazellen aus der subependymalen Gliazellschicht für wahrscheinlich.

Unterschiedliche Anschauungen bestehen im Hergang der Entwicklungsvorgänge beim Entstehen des Zentralnervensystems. HIS (1889) nennt primitive Epithelzellen, aus denen sich Ependymzellen und Neurogliaelemente entwickeln, Spongio-

blasten. Daneben sollen Germinativzellen existieren, die mitotische Aktivitäten zeigen und sich zu Neuroblasten differenzieren können, die wiederum die Vorstufe der eigentlichen Nervenzellen darstellen. SCHAPER (1897) geht davon aus, daß die primitiven Epithelzellen des Neuralrohrs und die HISSchen Germinativzellen identisch sind, da beide Mitosen zeigen. Diese beiden Zelltypen bilden indifferente spolare Zellen, die ebenfalls teilungsfähig sind. Aus diesen indifferenten apolaren Zellen können sich durch Mitosen weitere Prädifferenzierungsformen bilden, nämlich a) Neuroblasten und b) Spongioblasten, ferner aber auch Zellen, die die Potenz sich zu differenzieren länger beibehalten. FUJITA (1963) hat bei Versuchen an Hühnerembryonen festgestellt, daß die Keimschicht (Matrix) im Neuralrohr aus einer homologen Zellpopulation, den Matrixzellen, besteht, die teilungsfähig sind. Von hier ausgehend soll die Cytodifferenzierung in Neuroblasten oder Neuroglia- oder Ependymzellen einsetzen, indem die Zellen die Matrixschicht verlassen.

ALLEN (1912) beschreibt Überreste der Matrix bei zwei Jahre alten Albinoratten und findet hier bei 120 Tage alten Tieren sich noch teilende Matrixzellen im lateralen Ventrikel des Cerebrums. Die Anzahl der Matrixzellen nimmt mit steigendem Alter der Tiere ab; ihre mitotische Aktivität wiederum steht in einem bestimmten Maße in Abhängigkeit zum Tagesrhythmus, zur Jahreszeit und zum Alter der Ratten (KIRSCHKE, 1967). Allerdings beteiligen sich Matrixzellen nicht an der Neuzubildung von Ganglienzellen, deren absoluter Bestand bei der Geburt zeitlebens bestehen bleibt (NOETZEL und SIEPMANN, 1965). Zeitlich genauere Angaben über das Verhalten der Subependymschicht, die bei der Ratte besonders mächtig in der lateralen Ventrikelwand im Gebiet zwischen Corpus callosum und Striatum ausgebildet ist und an Dicke caudal und ventral abnimmt, macht SCHACHENMAYR (1967): Am 18. Embryonaltag formt sich an der Wand der Seitenventrikel eine besondere subependymale Zellschicht. Diese bildet sich schon bald nach der Geburt zurück und ist am 21. Lebenstag nur noch in Re-

sten vorhanden, die auch beim erwachsenen Tier zu finden sind. BÖHME (1969) fand ebenfalls im apikalen Bereich der lateralen Ventrikel der Ratte eine Anhäufung von subependymalen Gliazellen (Hypendym), konnte aber keine genaue Zuordnung der Kerne zu bestimmten Zellen feststellen. Diese ovalen Zellkerne sind chromatinreich und liegen überwiegend mit ihrer Längsachse parallel zur Ventrikelwand und werden als Überreste der Matrix angesehen. Ihr Vorhandensein beschränkt sich in erster Linie auf das Gebiet der lateralen Ventrikel und ist sonst kaum nachweisbar.

Mitotische Zellaktivität im Subependymbereich wurde auch bei anderen adulten Säugern, zum Teil mit radiomarkierten Substanzen nachgewiesen: BRYANS (1959) bei Ratten, SMART (1961) bei Mäusen, ALTMANN (1963) bei Ratten und Katzen, FISCHER (1966) bei Hunden, ALTMANN und DAS (1966) bei Ratten, LEWIS (1968 a und b) bei Affen und Ratten, SCHULZ (1969) bei der Eidechse. NOETZEL und ROX (1964) fanden auch bei erwachsenen Mäusen eine Subependymschicht mit undifferenzierten Zellen und Mitosen, beim phylogenetisch höher entwickelten Rhesusaffen dagegen nicht.

E. Eigene Untersuchungen

I. Material und Methodik

Als Versuchstiere dienten Sprague-Dawley-Ratten, die einzeln in Käfigen bei Tageslicht aufgestellt waren. Raumtemperatur (23°C - 25°C) und relative Luftfeuchtigkeit (40 - 45 %) wurden annähernd konstant gehalten. Die Ernährung erfolgte durch Altromin^R-R-Standarddiät; Leitungswasser stand ad libitum zur Verfügung.

Insgesamt wurden 20 Ratten in zwei Gruppen zu je 10 Tieren für die Kernmessungen herangezogen: Gruppe A setzt sich aus Tieren ohne Hirntumoren verschiedenen Alters zusammen (1 - 540 Tage), Geschlechtsverteilung in dieser Gruppe beträgt 5 : 5. In der Gruppe B sind 10 Ratten, die aus einer Gruppe von 80 Tieren stammen, bei denen Hirntumoren im Experiment mit neuroonkogenen Substanzen erzeugt wurden. Diesen Tieren wurde zweimal wöchentlich 6 mg/kg KG N-Methyl-N-nitrosoharnstoff mit Trinkwasser per os verabreicht. Die mittlere Tumorinduktionszeit betrug 430 Tage bei einer durchschnittlichen Gesamtdosis von 340 mg/Tier. - Bedingt durch die Dauer der Karzinogenese schwankt in der Gruppe B das Alter von 245 bis 637 Tagen, bei einer Geschlechtsverteilung männlich : weiblich von 4 : 6.

Die Tiere wurden unter Äthernarkose dekapiert. Nach Entfernung der Schädeldecke, der Seitenteile des Schädels und des os occipitale wurde das gesamte Gehirn mit äußerster Vorsicht herausgenommen und anschließend sofort fixiert. Als Fixationsmedium diente 6 %iges Formalin. Die über acht Tage anfixierten Gehirne wurden durch einen Horizontalschnitt in Höhe der bei der Ratte mächtig ausgebildeten bulbi olfactorii halbiert und weitere 14 Tage nachfixiert. Danach wurden die Gehirnteile zwei Stunden lang gründlich gewässert und anschließend im "automatic tissue processor" der Firma Shandon, London, zur Entwässerung verbracht.

Die so behandelten Gehirnteile wurden für zwei Tage im Brutschrank bei 56°C in Paraffin eingebettet. Von jenen in

Paraffinblöcken eingebetteten Präparaten wurde mit dem Jung-Mikrotom, Heidelberg, horizontale, 6 - 8 μ dicke Serienschnitte angefertigt, und, nachdem diese entparaffiniert waren, mit 1 %igem Kresylechtviolett nach NISSL gefärbt.

Von jedem Tier wurde schließlich je ein Schnitt verwendet und vom Subependym in der Region des Caput caudatum (Abb. 2 und 3a) (bei der Ratte erstreckt sich der Nucleus caudatus nicht wie bei den Primaten bis zur medialen und dorsalen Seite der Capsula interna, sondern imponiert nur als Caput caudatum, das sich in medio-caudaler Richtung gegen den lateralen Ventrikel vorwölbt (ZEMANN und INNES, 1963)) wurden pro Tier ca. 35 mikrophotographische Aufnahmen gemacht. Hier, im Bereich des Ventrikelpols zum Bulbus olfactorius hin, findet sich dorsal eine besonders starke Konzentration an Matrixzellen (KIRSCHKE, 1970).

Photographiert wurde unter dem Lichtmikroskop bei Ölimmersion und konstanter Vergrößerung von 1:400. Von den Negativen wurden auf Dokumentenrückvergrößerungspapier Kopien mit konstantem Endmaßstab von 1:2000 hergestellt.

Zur Orientierung und Differenzierung von histologischen Strukturen der verschiedenen Zellkerne des Zentralnervensystems dienten Aufzeichnungen von BAILEY (1932), NURNBERGER (1957) und HOSOKAWA (1963). Mit einem OTT-Planimeter, Kempen, wurden nur runde bis ovale, gleichmäßig gefärbte Zellkerne des Subependyms gemessen, die annähernd äquatorial getroffen waren. Kalotten wurden nicht gemessen. Die Gefahr, nicht äquatorial getroffene Kerne in die Messungen miteinzubeziehen, ist bei allen Schnitten gleich groß, womit sich dieser relative Fehler ausgleicht. Ebenfalls nicht gemessen wurden die gut erkennbaren runden und elipsoiden Ependymzellkerne an den Ventrikelwänden, sowie Kerne mit irregulären Konturen und nur vereinzelt vorkommende Neurocyten, die deutlich durch den kräftig gefärbten Nucleolus zu differenzieren waren. Jeder zu messende Kern wurde mit dem Planimeter mehrmals umfahren und jede einzelne Meßzahl

notiert. Als endgültiger Flächenwert des betreffenden Zellkerns wurde die Zahl genommen, die zum dritten Mal erschien.

II. Ergebnisse

Folgende tabellarische Übersicht gibt für jedes einzelne Tier Alter, Gesamtzahl der gemessenen Kerne, Mittelwert der gemessenen Flächen mit Standardabweichung sowie das Geschlecht an:

Tiere ohne Gliom (Gruppe A)

Tier Nr.	Alter in Tagen	Geschlecht	gemessene Zellkerne		
			n	$\bar{x}$	s
A 1	1	w	239	11,73	2,75
A 2	30	m	172	14,18	3,22
A 3	60	w	207	14,35	3,70
A 4	90	w	259	14,17	3,03
A 5	120	w	193	16,16	3,13
A 6	180	m	227	13,62	2,72
A 7	300	m	184	18,71	3,80
A 8	330	m	165	16,10	3,56
A 9	360	w	151	15,83	2,87
A 10	540	m	161	15,29	3,86
gesamt:		Durchschn.			
A 1 - A 10	Alter: 201,1	5 w, 5 m	1960	15,01	1,87

Tiere mit Gliom (Gruppe B)

Tier Nr.	Alter in Tagen	Geschlecht	gemessene Zellkerne		
			n	$\bar{x}$	s
B 1	608	w	263	12,31	4,50
B 2	585	w	172	19,48	6,20
B 3	245	m	317	15,83	4,06
B 4	590	m	289	14,33	3,73
B 5	255	m	245	16,46	4,03
B 6	491	m	225	11,66	3,30
B 7	637	w	252	14,35	3,65
B 8	619	w	317	15,71	4,94
B 9	410	w	209	14,18	4,23
B 10	360	w	143	20,14	11,69
gesamt:		Durchschn.			
B 1 - B 10	Alter: 480	6 w, 4 m	2332	15,35	2,72

n = Anzahl der gemessenen Kerne

$\bar{x}$ = Mittelwert der gemessenen Kerne

s = Standardabweichung

Eine graphische Übersicht der Kernklassen bei den Tieren der Gruppe A und Gruppe B geben die Tabellen 1-3.

In den unteren Kernklassengrößen von 5-11 sind die Kurven auffallend parallel. In den mittleren Kernklassengrößen besteht eine gewisse Diskrepanz, um dann wieder von den Werten ab 16 aufwärts in ein ausgeglicheneres Verhältnis überzugehen. Die Kernklassenverteilungskurven deuten in grober Übersicht schon an, daß zwischen den zu vergleichenden Tiergruppen kaum Unterschiede im Hinblick auf die Verteilung der Kerngrößen im Subependym besteht. Eine exakte Aussagekraft hat aber allein der statistisch geführte Vergleich. Der technisch-rechnerische Teil der Statistik wurde an einem elektronischen Tischrechner durchgeführt.

Setzt man voraus, daß die Kernklassengrößen jedes einzelnen Tieres, die in der Gruppe A von 5-30, in der Gruppe B von 6-36 gemessen wurden, einer Normalverteilung entsprechen, so kann man beide Gruppen mit Hilfe des t-Testes vergleichen, um festzustellen, ob ein Einfluß durch Tumorwachstum auf die Zellkerngröße im subependymären Glialager besteht oder nicht. In der Gruppe A konnten, um alle Altersklassen überhaupt erfassen zu können, Tiere im Alter von einem bis 540 Tage zu karyometrischen Messungen herangezogen werden. In der Gruppe B dagegen liegen, bedingt durch die lange Induktionszeit experimenteller Gliome, die Alterspanne zwischen 245 und 637 Tagen.

Zuerst wurde anhand einer Korrelationsanalyse statistisch geprüft, ob eine Abhängigkeit der Zellkerngröße vom Alter besteht.

Bei einem Korrelationskoeffizienten von 0,56 $r(p=5\%; FG=8)=0,63$ besteht kein signifikanter Alterseinfluß. Da dieses Ergebnis aber knapp an der Signifikanzgrenze liegt, wurde - um eine noch exaktere Aussage über einen eventuellen Alterseinfluß machen zu können - das Alter der Ratten ohne Tumoren auf das Durchschnittsalter der Tiere mit Tumoren (480 Tage) korrigiert.

Die korrigierten Werte wurden dann mit Hilfe des t-Testes verglichen:

$$t = 1,34 < t_{6p = 5 \% ; FG = 18} = 2,10.$$

Dieses Ergebnis zeigt noch deutlicher, daß das Alter der Tiere keinen Einfluß auf die Zellkerngröße ausübt!

Möglich wäre auch eine natürliche Abhängigkeit der Zellkerngröße vom Geschlecht der Tiere. Die Aufteilung männlich-weiblich bei den 20 Ratten beträgt 9 : 11. Der Mittelwert der Kerngrößen bei den männlichen Tieren ist $15,02 \pm 1,94$, bei den weiblichen $15,31 \pm 2,61$. Das Ergebnis des hierfür angewendeten t-Testes läßt ebenfalls keinen signifikanten Einfluß durch das Geschlecht auf die Größe der gemessenen Zellkerne erkennen:

$$t = 0,28 < t_{(p = 5 \% ; FG = 18)} = 2,10$$

Statistisch konnte also nachgewiesen werden, daß bei dem untersuchten Material zumindest weder durch das Alter noch durch das Geschlecht ein Einfluß auf die Zellkerngröße der subependymären Glia besteht. Geht man von diesen Voraussetzungen aus, so können erst dann beide Gruppen miteinander verglichen werden.

Wie aus der tabellarischen Übersicht ersichtlich, beträgt der Mittelwert der Kerngrößen bei den Tieren ohne Tumoren $15,01 \pm 1,87$ und in der Gruppe B $15,35 \pm 2,72$.

Aus dem Ergebnis des t-Testes, dem die Hypothese zugrunde liegt, daß die Mittelwerte zweier Stichproben (Gruppe A und Gruppe B) gleich sind, ist ersichtlich, daß kein statistisch signifikanter Unterschied in den Zellkerngrößen beider Gruppen besteht:

$$t = 0,32 < t_{(p = 5 \% ; FG = 18)} = 2,10$$

F. Diskussion

Karyometrische Untersuchungen haben als rein quantitative Meßmethode eine recht gute Aussagekraft über bestimmte Zustandsformen von Zellkernen gegeben (JAKOBI, 1931; BENNINGHOFF, 1949; KULENKAMPFF und WÜSTENFELD, 1954; BUCHER, 1958 und HILLER, 1964). Das Karyogramm ("Kernbild") kann die Reaktionslage der Zelle durch ihre Größe in gewissem Maße aufzeigen, d.h. die Abhängigkeit der Kerngröße kann durch Kriterien wie Art, Alter, Geschlecht, Tageszeit, Hunger, Durst, applizierte Pharmaka u.a.m., sowie durch die Zahl der Chromosomen bedingt sein.

Bei der Aufzucht der Versuchstiere wurde diesen Kriterien insofern Rechnung getragen als versucht wurde, die Tiere unter gleichen Bedingungen zu halten. Ebenso wurde statistisch ausgeschlossen, daß Alter und Geschlecht einen Einfluß auf die Kerngröße nehmen. Die Euthanasie und Präparation der Tiere wurde nach Möglichkeit ebenfalls unter identischen Bedingungen vorgenommen. Andere physiologische, psychische und individuelle Unterschiede, wie Konstitution, Kondition usw. konnten nicht ausgeschlossen werden und könnten möglicherweise einen gewissen Einfluß auf das Kernbild allgemein genommen haben.

Die karyometrischen Untersuchungen im subependymalen Gliageewebe bei Ratten ohne Hirntumoren und bei Ratten mit experimentell erzeugten Hirntumoren zeigen keinen statistisch signifikanten Unterschied. Es wurde angenommen, daß die subependymäre Gliaschicht, die reich an Matrixzellen im Sinne von OPALSKI ist, möglicherweise Ursprungsort bzw. Ausgangspunkt für tumoröse Prozesse im Gehirn sein kann (GLOBUS und KUHLENBECK). Eine Transformation der Zellen des Subependyms müßte aber eine Kernproliferation in diesem Gebiet zur Folge haben und durch quantitative Messungen in Form der Karyometrie zu erfassen sein (STAVROU et al., 1970).

STOCHDORPH (1955) glaubt allerdings nicht an eine Kausalbeziehung zwischen Matrixzellresten im Bereich der Ventrikelwand und den hier lokalisierten Tumoren: "In vielen Fällen ist aber das subependymäre Lager in diesem Bereich noch völlig intakt und sicher nicht Ausgangspunkt der Geschwulst". FISCHER fand ebenfalls keinen kausalen Zusammenhang zwischen Subependymzellen und Tumordisposition.

Die Frage, ob die subependymäre Gliazellschicht bei der adulten Ratte noch embryonale Matrixzellen enthält, kann im positiven Sinne beantwortet werden und wird durch histochemische Untersuchungen am Gehirn der Ratte und beim Meerschweinchen untermauert (SCHIMIZU und MORIKAWA, 1957; FRIEDE, 1959 a u. b; STAVROU, 1972). Im Subependym findet sich gegenüber dem angrenzenden Parenchym und dem Ependym als Zeichen eines schwachen oxydativen Metabolismus wenig Succinodehydrogenaseaktivität, umgekehrt aber als Parameter einer aktiven Glykolyse reichlich Phosphorylase. "Der Sauerstoffverbrauch im fetalen oder unreifen Hirngewebe ist vergleichsweise geringer als dies beim erwachsenen Gehirn der Fall ist, die Aktivität der Glykolyse jedoch fällt postnatal ab und ist niedriger bei erwachsenen Tieren als bei jungen" (FRIEDE, 1966).

Enzymtopochemische Befunde bei STAVROU (1972) an Gehirnen von Sprague-Dawley-Ratten - bei denen die Aktivitäten hydrolytischer und oxydativer Enzyme im Bereich der subependymalen Zellschicht untersucht wurden - weisen auf ein, im Vergleich zum übrigen Hirngewebe, differentes histochemisches Verhalten des Subependyms hin (Abb. 3b und 3c). In der subependymalen Zellschicht der Ratte findet während der prä- und postnatalen Entwicklung eine enzymtopochemische Differenzierung statt, die im wesentlichen während der zweiten Lebenswoche zu ihrem Abschluß kommt und darauf hindeutet, daß es sich bei der subependymalen Schicht um eine Zone handelt, die sich entgegen dem übrigen Hirngewebe in einer niedrigen Differenzierungsstufe befindet. Damit sind die Beobachtungen OPALSKIs weitgehend bestätigt.

Bei karyometrischen Untersuchungen wird davon ausgegangen, daß Kerne von Tumorzellen durch Vermehrung von DNS bzw. Chromosomen einer Proliferation unterliegen. Nach MENDELSON (1962) besteht Tumorgewebe aber zu gleichen Teilen aus nichtwachsenden und aus proliferierenden Zellen, wobei es nicht möglich ist, morphologisch zu differenzieren, in welchem Zustand sich die einzelne Zelle befindet. Da auch im Subependym der Tiere ohne Hirntumoren Zellen mit mitotischer Aktivität zu finden sind, ist es möglich, daß der Einfluß der Onkogene auf die Proliferation der Zellkerne nicht ausreichend ist, um ihn karyometrisch erfassen zu können.

Fraglich ist schließlich, ob onkogene Stoffe allein die autoreproduktiven Bestandteile des Kerns beeinflussen, die in dieser Arbeit mit Hilfe der Kernmessung erfaßt werden können oder ob nicht Elemente des Cytoplasmas durch onkogen wirkende Stoffe verändert werden. Immerhin ist erwiesen, daß Onkogene im Cytoplasma, z.B. in den Mitochondrien, gespeichert werden (GRAFFI, 1940) und damit störend auf die Zellatmung wirken können (WARBURG, 1955). Ebenfalls können sie das endoplasmatische Retikulum und die Ribosomen beeinflussen, also Elemente, die eine wichtige Rolle bei der Proteinsynthese der Zelle spielen (MILLER und MILLER, 1953; MIZRAHI und EMMELOT, 1964). Ein Ausfall bestimmter zytoplasmatischer Proteine könnte somit sekundär die Erbbestandteile des Kerns verändern, so daß sich eine primäre Schädigung im Cytoplasma indirekt am genetischen Material des Kerns auswirken müßte.

Für eine Nichtbeteiligung des Zellkerns bei der Tumorentstehung, die zumindest karyometrisch nicht erfaßbar ist, sprechen auch Untersuchungen von BAYREUTHER (1960), wonach auch primäre Karzinomzellen verschiedener Genese, wie gesunde Soma-zellen, einen diploiden Chromosomensatz haben. Im Primärstadium der Karzinogenese bei der Rattenleber fanden auch GRUNDMANN (1954, 1961) und HOBIG und GRUNDMANN (1962) unter Einwirkung von onkogenen Stoffen (Dimethylaminobenzol oder Diäthylnitrosamin) diploide Zellkerne, die ebenfalls als Ausgangszellen von Karzinomen bewertet werden konnten.

G. Zusammenfassung

Das subependymale Gliazellgewebe der Seitenventrikel wurde vielfach als Ursprungsort bestimmter Hirntumoren angesehen. Um der Beantwortung dieser Frage näher zu kommen, wurde versucht, mit Hilfe der Planimetrie das Verhalten der Zellkernklassen im subependymalen Glialager der Ratte unter normalen und experimentellen Bedingungen (d.h. im Cancerogenversuch) aufzuzeichnen.

Insgesamt wurden 4292 Zellkerne gemessen und statistisch ausgewertet, um herauszufinden, ob die chronische Applikation von neurotrophen Resorptiv-Onkogenen an Subependymzellkernen zu karyometrisch faßbaren Größenänderungen führt, welche als Transformationsäquivalente gewertet werden könnten.

Statistisch konnte auf diese Weise aber nachgewiesen werden, daß keine signifikanten Größenzunahmen der Subependymkernklassen bei Ratten mit experimentell erzeugten Gliomen gegenüber Ratten ohne Hirntumoren bestehen. Hieraus ergibt sich als weitere Frage, ob mögliche Veränderungen im Kern transformierter Zellen mit der angewandten quantitativen Meßmethode überhaupt erfaßbar sind bzw. ob onkogene Stoffe nicht auch Elemente des Cytoplasmas beeinflussen und so zu einer Zelltransformation führen, ohne dabei das Kernbild entscheidend verändern zu müssen.

Summary

The subependymal glial cell tissue of the lateral ventricles has often been considered as place of origin for certain brain tumors.

In order to come closer to an answer of this question, it has been attempted to record by means of planimetric methods the behaviour of classes of cell nuclei located in the subependymal glial layers of rats comparing normal and experimental (i.e. in a cancerogenic test) conditions.

Alltogether 4292 nuclei have been measured and statistically evaluated to find out whether chronic application of neurotropic resorptiv-oncogenes to subependymal cells does lead to karyometrically detectable changes in size which could be interpreted as transformation equivalents.

It was possible to prove by this method statistically, that there were no significant increases in size within classes of subependymal nuclei comparing rats with experimentally induced gliomas with such without brain tumors. Consequently the question arises whether it is at all possible to record changes in the nucleus of transformed cells with the quantitative do influence cytoplasmic elements as well, leading to a cell transformation without decisivly changing the picture of the nucleus.

Literaturverzeichnis

- ALLEN, E.: The cessation of mitosis in the central nervous system of the albino rat.
J. comp. Neurol. 22, 547-570 (1912)
- ALTMAN, J.: Autoradiographic investigation of cell proliferation in the brains of rats and cats.
Anst. Rec. 145, 573-577 (1963)
- ALTMAN, J. and J.D. DAS:
Autoradiographic and histological studies of postnatal neurogenesis.
J. comp. Neurol. 126, 337-365 (1966)
- BAILEY, P.: Cellular types in primary tumors of the brain.
In: Cytology and cellular pathology of the nervous system. 3, 903-951 W. Penfield,
New York: P.B. Hoeber 1932
- BAUER, K.H.: Mutationstheorie der Geschwulstentstehung.
Berlin: Springer 1928
- BAYREUTHER, K.: Chromosome in primary neoplastic growth.
Nature (London) 186, 6-9 (1960)
- BENNINGHOFF, A.:
Funktionelle Kernschwellung und Kernschrumpfung.
Anat.Nachr. 1, 50-53 (1949)
- BÖHME, G.: Untersuchungen über die Struktur der marginalen und periventrikulären Glia des Gehirns.
Vet. med. Habilitation, Berlin 1969
- BOTS, G., R. KROES and V.J. FERON:
Spontaneous tumors of the brain in rats.
Path. Vet. 2, 290-296 (1968)
- BOYKIN, F.C., D. COWEN and C.A.J. LANNUCCI:
Subependymal glomerate astrocytomas.
J. Neuropath. exp. Neurol. 13, 30-49 (1954)
- BRYANS, W.A.: Mitotic activity in the brain of the adult rat.
Anat. Rec. 133, 65-71 (1959)
- BUCHER, O.: Das Karyogramm als Ausdruck der Zellaktivität.
Verh. Anat. Gew. 105, 119-129 (1958)

- BÜCHNER, F.: Geschwülste. I. Das Wesen, das Wachstum und die Ursachen der Geschwülste.
Aus: E. LEXER, Lehrbuch der allgemeinen Chirurgie, 2, 367-382 Stuttgart: F. Enke 1952
- Beiträge zur pathologischen Anatomie und zur allgemeinen Pathologie.
Stuttgart: Fischer 1950
- CAMMERMEYER, J.: The hypendymal microglia cell.
Z. Anat. Entwickl.-Gesch. 124, 543-561 (1965)
- CHASON, J.L.: Subependymal mixed gliomas.
J. Neuropath. exp. Neurol. 15, 461-470 (1956)
- COWDRY, E.V. and F.X. PALETTA:
Changes in cellular, nuclear and nucleolar size during methylcholanthrene epidermal carcinogenesis.
J. nat. Cancer Inst. 1, 745-758 (1941)
- DAHME, E. und B. SCHIEFER:
Intracranielle Geschwülste bei Tieren.
Zbl. Vet. Med. 7, 341-363 (1960)
- DRUCKREY, H., S. IVANCOVIC, R. PREUSSMANN:
Neurotrope carcinogene Wirkung von Phenyl-dimethyl-triazinen an Ratten.
Naturwissenschaften 54, 171 (1967)
- Selektive Erzeugung von Hirntumoren bei Ratten durch Methylnitrosoharnstoff.
Naturwissenschaften 51, 144 (1964)
- EHRICH, W.E.: Nuclear size in growth disturbance: with special reference to the tumor cell nucleus.
Amer. J. med. sci. 192, 772-781 (1936)
- EPANTSCHIN, W.: Kernmessungen beim Teerkrebs der weißen Maus.
Z. Krebsforsch. 42, 439-448 (1938)
- FISCHER, K.: Subependymale Zellproliferation und Tumordisposition brachycephaler Hunderassen.
Acta neuropath. (Berl.) 8, 242-254 (1966)
- FRAUCHIGER, E. und R. FANKHAUSER:
Vergleichende Neuropathologie des Menschen und der Tiere.
Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1957
- FRIEDE, R.L.: Histochemical investigations on succinic dehydrogenase in the central nervous system.
I. The postnatal development of rat brain.
J. Neurochem. 4, 101-110 (1959a)

- FRIEDE, R.L.: Histochemical distribution of phosphorylase activity in the brain of guinea pig.
J. Neurol. Neurosurg. Psychiatr. 22, 325 - 329 (1959b)
- Topographic brain chemistry.
New York and London: Academic Press 1966
- FUJITA, S.: The matrix cell and cytogenesis in the developing central nervous system.
J. comp. Neurol. 120, 37 - 42 (1963)
- GARNER, F.M., J.R.M. INNES and J.H. NELSON:
Murine neuropathology.
In: COTCHIN, E. and J.F.C. ROE: Pathology of laboratory rats and mice (S. 259 - 348) Oxford: Blackwell
- GLOBUS, J.H. and H. KUHNENBECK:
Tumors of the striato-thalamic and related region. Their probable source of origin and more common forms.
Arch. Path. 34, 674 - 693 (1942)
- The subependymal cell plate (Matrix) and its relationship to brain tumors of ependymal type.
J. Neuropath. exp. Neurol. 3, 1 - 35 (1944)
- GRAFFI, A.: Intrazelluläre Benzpyrenspeicherung in lebenden Normal- und Tumorzellen.
Z. Krebsforsch. 50, 196 - 219 (1940)
- GRUNDMANN, E.: Beiträge zur Krebsentstehung in der Rattenleber, an Hand mikrophotometrischer DNS-Messungen.
Verh. dtsh. Ges. Path. 38, 362 - 370 (1954)
- Die Zytogenese des Krebses.
Dtsch. Wschr. 86, 1077 - 1084 (1961)
- GUERIN, M.: Tumeurs spontanées des animaux de laboratoire.
Paris: Thèse 1954
- HAYES, K.C. und B. SCHIEFER:
Primary tumors in the CNS of carnivores.
Path. vet. 6, 94 - 116 (1969)
- HEBAUER, O.: Karyometrische Untersuchungen zur Frage der Genese von experimentellen Leberzirrhosen und Lebertumoren nach chronischer Seneciovergiftung.
Vet. med. Diss. München 1958

- HILLER, G.: Theoretische und methodische Grundlagen der Kernmessung.
Z. mikros.-anat. Forsch. 72, 317-343 (1965)
- HIS, W.: Die Neuroblasten und deren Entstehung im embryonalen Mark.
Arch. Anat. Physiol. 5, 249-300 (1889)
- HOBIG, H.B. und R. GRUNDMANN:
Quantitative Veränderungen der DNS und RNS in der Rattenleber während der Carcinogenese durch Diäthylnitrosamin.
Beitr. Path. Anat. 127, 25-48 (1962)
- HORTEGA, P. del Rio:
El terder elemento de los centros nervisos.
Bol. Soc. esp. Biol. 9, 69-120 (1919)
- HOSOKAWA, H. and H. MANNEN:
General aspects of histology of neuroglia.
In: Morphology of neuroglia. 1, 1-17. J. Nakai, Osaka: Igaku Shion Ltd. 1963
- JÄNISCH, W., D. SCHREIBER:
Experimentelle Geschwülste des Zentralnervensystems.
Jena: G. Fischer 1969
- JAKOBI, W.: Volumetrische Untersuchungen an den Zellkernen des Menschen und das allgemeine Problem der Zellkerngröße.
Anat. Anz. Argänz. 72, 236-247 (1931)
- KIRSCHKE, W.: Über postembryonale Matrixzonen im Gehirn verschiedener Vertebraten und deren Beziehung zur Hirnbauplanlehre.
Z. mikros.-anat. Forsch. 77, 313-406 (1967)
- Weitere Untersuchungen über das Vorkommen postembryonaler Matrixzonen im Telencephalon einiger Säugetiere.
Forsch. 82, 122-145 (1970)
- KLAUS, B.: Histologische und karyometrische Untersuchungen im Bereich des subependymalen Glialagers beim Hund. Ein Beitrag zur Frage der Rolle des Subependyms bei der Gliomentstehung.
Vet. med. Diss. München 1972
- KRAEMER, D.Z.: Epidermal nuclear size changes in methylanthrene induced carcinogenesis.
Anat. Rec. 94, 289-304 (1946)

- KUHLENKAMPPF, H. und E. WÜSTENFELD:
Funktionsbedingte Veränderungen der Kerngröße
von Gliazellen im Grau des Rückenmarks der wei-
ßen Maus.
Z. Anat. Entw. Gesch. 118, 97-101 (1954)
- LANGER, E.: Kernveränderungen an Rattenlebern unter Ein-
wirkung des cancerogenen Stoffes Dimethyl-
aminoazobenzol.
Z. Krebsforsch. 52, 443-454 (1942)
- LEWIS, P.D.: Mitotic activity in the primate subependymal
layer and the genesis of gliomas.
Nature 271, 974-975 (1968a)
- The fate of the subependymal cell in the adult
rat brain, with a note on origin of microglia.
Brain 91, 721-738 (1968b)
- LUGINBÜHL, H.: Comparative aspects of tumors of the nervous
system.
Ann. N.Y. Acad. Sci. 108, 702-721 (1963)
- LUGINBÜHL, H., R. FANKHAUSER and J.T. McGRATH:
Spontaneous neoplasma of the nervous system in
animals.
Progr. neurol. surg. 2, 85-164, Karger, Basel,
and Year Book, Chicago (1968)
- MARQUARDT, H.: Erbänderungen somatischer Zellen und ihr Anteil
bei experimenteller Krebsauslösung.
Naturwissenschaften 46, 217-223 (1959)
- MENDELSON, M.L.:
Autoradiographic analysis of cell proliferation
in spontaneous breast cancer of C3 H mouse.
3. The growth fraction.
J. Nat. Cancer Inst. 28, 1015-1029 (1962)
- MILLER, E.C. and J.A. MILLER:
The carcinogenic aminoazo dyes.
Advac. Cancer Res. 1, 339-396 (1953)
- MIZRAHI, I.J. and P. EMMELOT:
On the mode of action by which the carcinogen
dimethylnitrosamine inhibits protein synthesis
in the liver.
Biochim. biophys. Acta (Amst.) 91, 362-364
(1964)
- NAKAI, J.: Transformation and multiplication of glial cells.
In: Morphology of neuroglia 1, 70-73, J.Nakai,
Osaka: Igaku Shion Ltd. 1963

- NOETZEL, H. und J. ROX:
Autoradiographische Untersuchungen über Zellteilung und Zellentwicklung im Gehirn der erwachsenen Maus und des erwachsenen Rhesusaffen nach Injektion von radiomarkiertem Thymidin. Acta neuropath. (Berl.) 3, 326-342 (1964)
- NOETZEL, H. und P. SPIELMANN:
Autoradiographische Untersuchungen am Großhirn neugeborener Ratten nach Injektion von Thymidin- H^3 . Z. Nervenheilk. 187, 637-659 (1965)
- NURNBERGER, J.I. and M.W. GORDON:
The cell density of neural tissues: direct counting method and possible Applications as a biological referent. In: Progr. Neurobiol. 2: Ultrastructure and cellular chemistry of neural tissue. H. Waelsch, New York: P.B. Hoeber 1957
- OPALSKI, A.: Über lokale Unterschiede im Bau der Ventrikelwände beim Menschen. Z. ges. Neurol. Psychiat. 149, 221-254 (1934)
- PAGE, R.C.: Cytologic changes in the skin of mice during application of carcinogenic agents. A.M.A. Arch. Path. 26, 800-816 (1938)
- SCHACHENMAYR, W.: Über die Entwicklung von Ependym und Plexus choriodeus der Ratte. Z. Zellforsch. 77, 25-63 (1967)
- SCHAPER, A.: Die frühesten Differenzierungsvorgänge im Centralnervensystem. Arch. Entwickl.-Mech. Org. 5, 81-132 (1897)
- SCHEINKER, J.M.: Subependynoma: a newly recognized tumor of subependymal derivation. J. Neurosurg. 2, 232-240 (1945)
- SCHIEFER, B., D. STAVROU, J. SHADDUCK, E. KAISER und E. Dahme:
Zur Frage der Tumoren des Zentralnervensystems beim Hund. Tierärztl. Umschau 25, 297-299 (1970)
- SCHIMIZU, N. and N. MORIKAWA:
Histochemical studies of succinic dehydrogenase of the brain of mice, rats, guinea pigs and rabbits. J. Histochem. Cytochem. 5, 334-345 (1957)
- SCHULZ, E.: Zur postnatalen Biomorphose des Ependyms im Telencephalon von *Lactera agilis agilis*. Z. mikros.-anatom. Forsch. 81, 111-152 (1969)

- SCHWARZ, H., GOOLKER and J.H. GLOBUS:
The normal histology of infants' brain.
Amer. J. Dis. Child. 43, 889-915 (1932)
- SMART, I.: The subependymal layer of the mouse brain and
its cell production as shown by radioautography
after thymidin-H³ injection.
J. comp. Neurol. 116, 325-338 (1961)
- STAVROU, D., E. KAISER und E. DAHME:
Zur Orthologie und Pathologie der subependymären
Glia. Karyometrische Untersuchungen bei brachyce-
phalen Hunden.
Berl. Münch. tierärztl. Wschr. 83, 164-168 (1970)
- STAVROU, D., B. SCHIEFER und H. SWOBODA:
Zur Frage des "Grading" von Gliomen bei Tieren.
Beitr. path. Anat. 140, 182-193 (1970)
- STAVROU, D.: Zur vergleichenden Pathologie der Tumoren des
Nervensystems. Eine morphologische und enzym-
histochemische Studie an spontanen und experi-
mentellen Tumoren des Nervensystems.
Zbl. Vet. Med. 18, 585-645 (1971)
- Enzymtopochemische Befunde im subependymalen
Glialager während der Entwicklung des Ratten-
hirns.
Histochemie (im Druck)
- STOCHDORPH, O.:
Die Gewebsbilder der Hirngewächse und ihre
Ordnung.
Stuttgart: G. Fischer 1955
- TOOTH, H.: Some observations on the growth and survival
period of intracranial tumors based on the re-
cords of 500 cases, with special reference to
the pathology of the gliomata.
Brain 35, 61-82 (1912)
- WARBURG, D.: Über die Entstehung der Krebszelle.
Naturwissenschaften 42, 401-412 (1955)
- ZEMAN, J. and J.R.M. INNES: In: Cragie's neuroanatomy of the
rat.
New York and London: Academic Press 1963
- ZÜLCH, K.J.: Biologie und Pathologie der Hirngeschwülste.
Hdb. d. Neurochirurgie, Bd. III, Berlin-Göt-
tingen-Heidelberg: Springer 1956

Gruppe A: Kernklassenverteilungskurve
von 10 Ratten mit Gliom

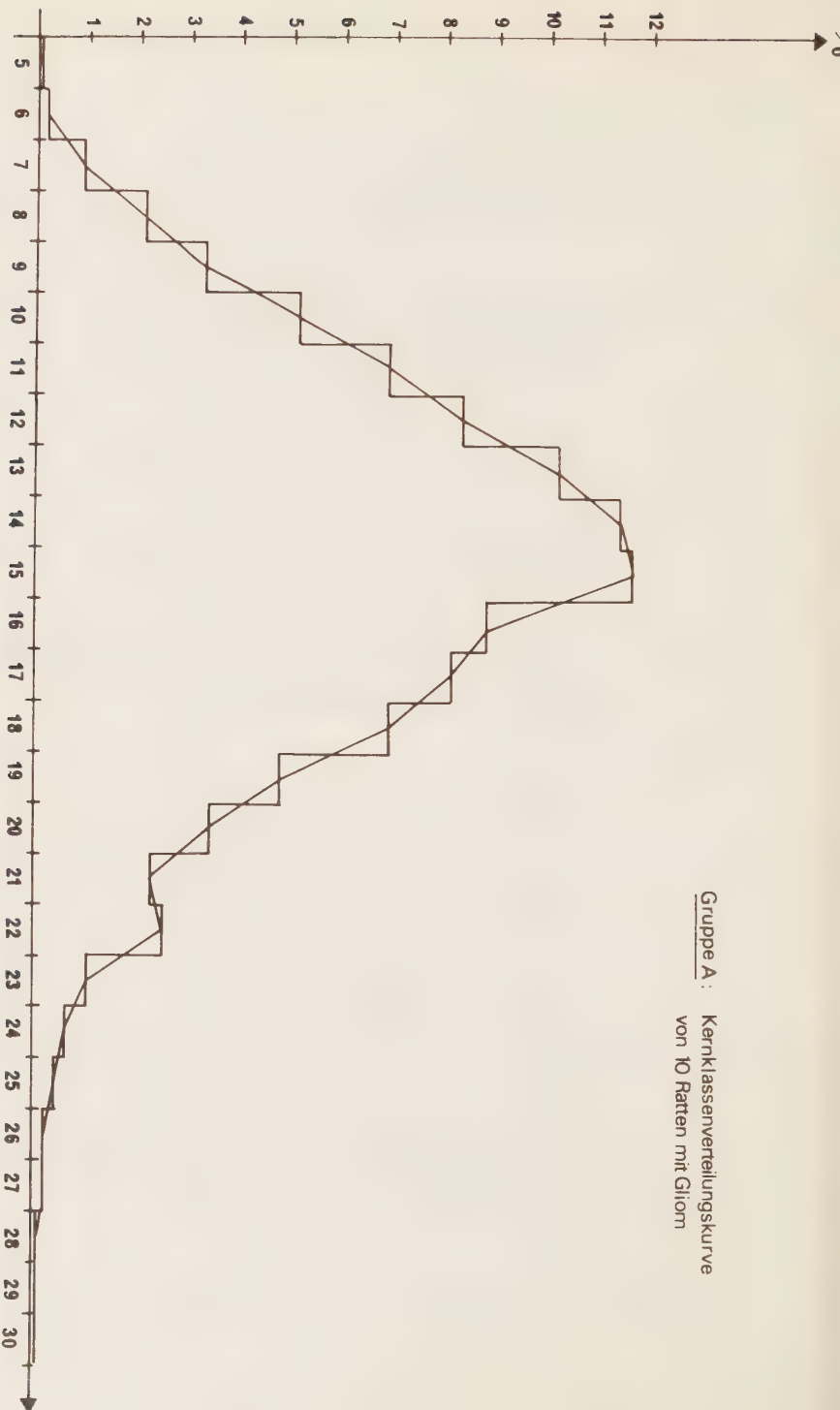


Tabelle 1

Gruppe B: Kernklassenverteilungskurve
vor 10 Ratten mit Gliom

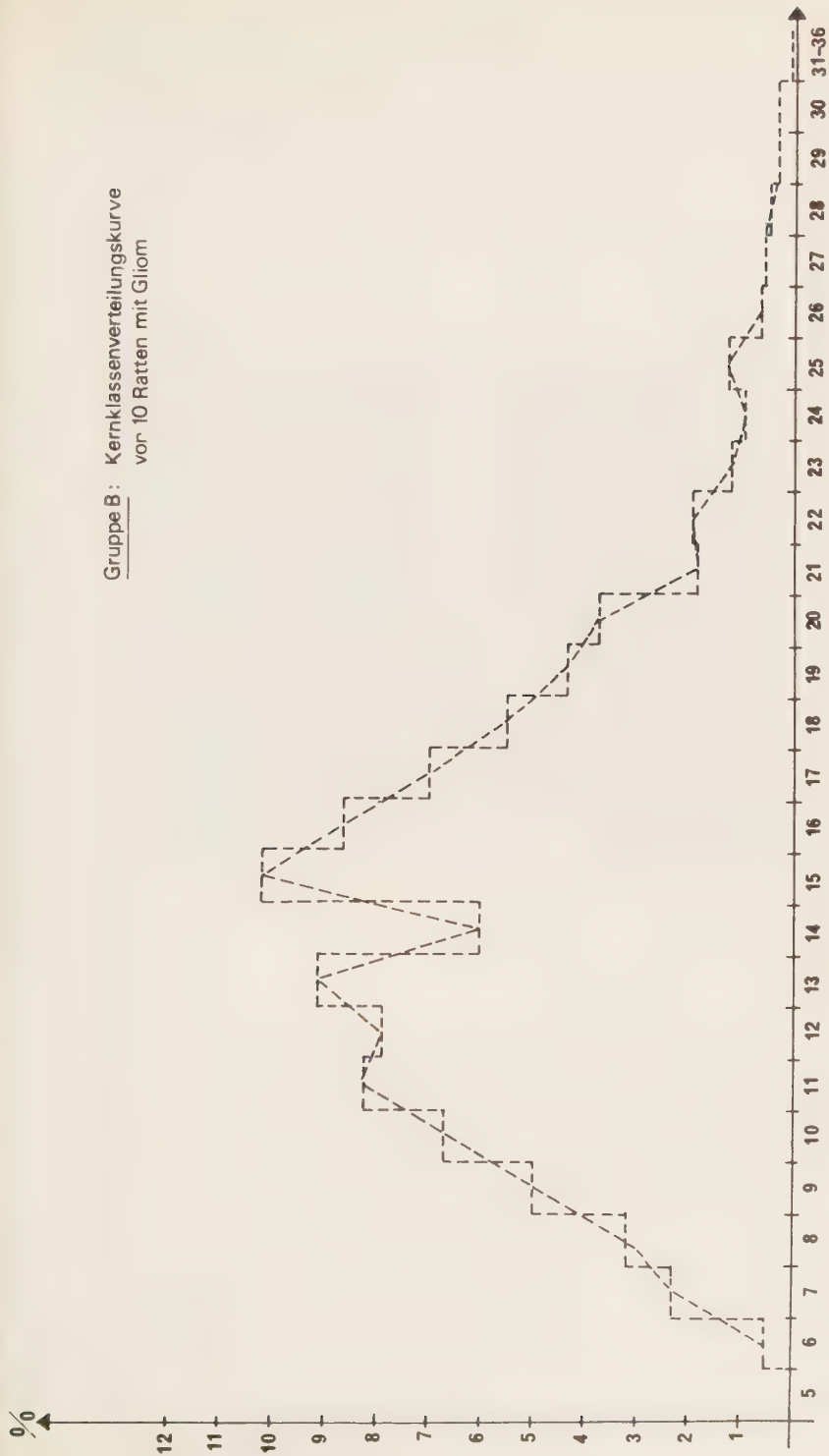


Tabelle 2

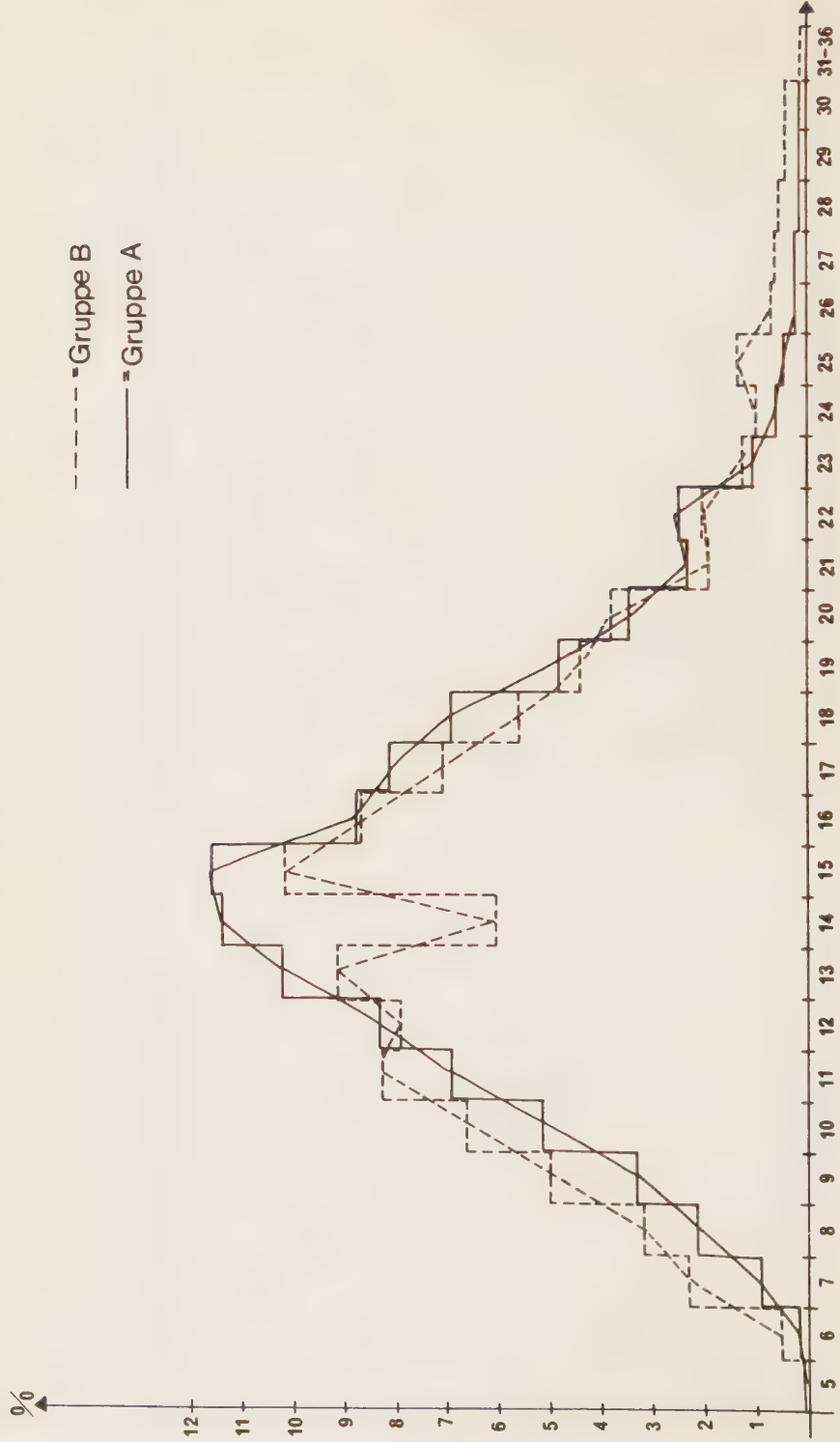


Tabelle 3

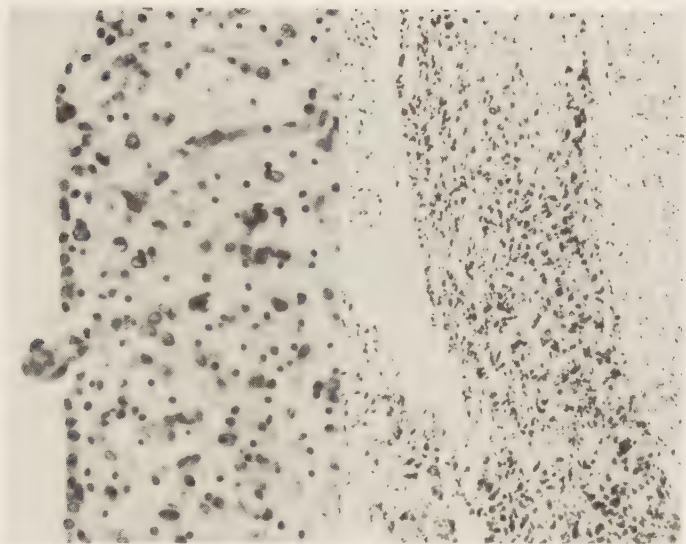


Abb. 1a und 1b: Durch neurotrope Resorptiv-Onkogene entstandene "Mikroglione" im Bereich der lateralen Wand der Seitenventrikel am Nucleus caudatus der Ratte.
(HE-Färbung, a) 120x; b) 300x)



Abb. 11: Überlebenskurve eines Horizontalschnittes vom Großhirn der Ratte nach LEWIS und INNES (1963). Aus dem Bereich des Nucleus caudatus, an der lateralen Wand der Seitenventrikel, wurden Subependymalläsionen gemessen (↑).

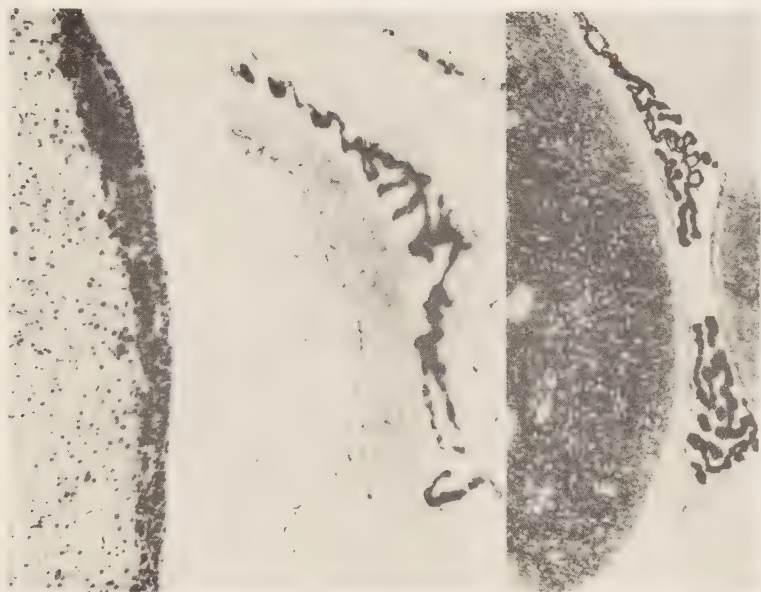


Abb. 3: Laterale Wand der Seitenventrikel in der Höhe des Caudatums.

- a) Dichter Subependymsaum
(NISSL-Färbung, 150x)
- b) Phosphormonoesterase-I-Reaktion: Deutliche Aktivität im subependymalen Zellager. Im übrigen Hirngewebe ist die Aktivität auf die Kapillarenendothelien beschränkt. (a-Pase, 120x)
- c) Succinatdehydrogenase-Reaktion: Im Vergleich zum Caudatum und Ependym deutlich schwächere SDH-Aktivität im Subependym. (SDH, 30x)

Herrn Prof. Dr. E. Dahme bin ich für die Überlassung des Themas und für die gewährte Unterstützung bei der Anfertigung dieser Arbeit zu großem Dank verpflichtet.

Besonderer Dank gilt Herrn Priv.-Doz. Dr. D. Stavrou für seine stets wertvolle Hilfe bei der Durchführung meiner Arbeit.

Ebenfalls danke ich Herrn Dr. K. Osterkorn, Institut für Tierzucht, Vererbungs- und Konstitutionsforschung der Universität München, für seine statistischen Ratschläge.

Lebenslauf

Am 30.3.1942 wurde ich als Sohn des Arztes Dr. Günther Pautzke und seiner Ehefrau Auguste, geb. Lerch, in Berlin geboren.

Die Grundschule besuchte ich in Angermünde und in West-Berlin, wo ich auch 1964 das Abitur bestand. Im Sommersemester 1964 begann ich das Studium der Veterinärmedizin an der Freien Universität Berlin und wechselte nach dem Vorphysikum 1965 an die Universität München. Im Herbst 1969 legte ich hier das Staatsexamen ab.

Anschließend war ich 1 1/2 Jahre als wissenschaftlicher Mitarbeiter in der Pharmazeutischen Industrie tätig.

Seit 1. November 1971 bin ich Verwalter der Dienstgeschäfte eines wissenschaftlichen Assistenten an der Chirurgischen Tierklinik der Universität München.

Mit der vorliegenden Arbeit begann ich Anfang 1970.



